

halten auch bei 23° feststellten. Zu diesen Befunden passen gut die Beobachtungen von JOEL (17), der während der Lipolyse bei 37° einen deutlich höheren Sauerstoffverbrauch feststellte als bei 8°. Für das experimentelle Vorgehen bei der *in-vitro*-Lipolyse läßt sich aus diesen Befunden ableiten, daß bei der hormoninduzierten Lipolyse eine genaue Temperatureinstellung zwischen 30° und 40° nicht erforderlich ist. Die Feststellung von MOSINGER (9), daß bei nicht maximaler Adrenalkonzentration im Medium die Freisetzung freier Fettsäuren linear zur Zeit verläuft, trifft nach unseren Untersuchungen auch für die Spontanlipolyse und die durch ACTH stimulierte Lipolyse zu. Da jedoch im allgemeinen die Inkubation nicht länger als 3 Stdn. durchgeführt wird, gilt das auch für maximale Hormon-

dosen; nur ist hierbei der wesentlich steilere Anstieg der freien Fettsäuren bereits in der ersten Std. zu berücksichtigen.

Wenn auch alle Untersuchungen am epididymalen Fettgewebe der Ratte vorgenommen wurden, ist nach den Mitteilungen aus der Literatur und unseren eigenen Ergebnissen eine Übertragung dieser Lipolysebedingungen auf andere Fettgewebsarten und andere *Species* möglich.

Möglicherweise läßt sich die geringere Ansprechbarkeit des menschlichen Fettgewebes auf lipolytische Hormone (9, 18) durch Modifikation einzelner Inkubationsbedingungen verbessern.

Herrn Dr. MILESCH, Farbwerke Hoechst, danken wir für die Überlassung von Rinderalbumin Behring.

Literatur

1. GORDON, R. S. und A. CHERKERS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 97, 150 (1958). — 2. WHITE, J. E. und F. L. ENGEL, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 99, 375 (1958). — 3. SCHWANDT, P., TH. HARTMANN und H. J. KARL, *Zschr. exper. Med.* 143, 79 (1967). — 4. CAMPBELL, J., A. D. MARTICCI und G. R. GREEN, *Biochem. J.* 93, 183 (1964). — 5. DOLE, V. P. und H. MEINERTZ, *J. biol. Chemistry* 235, 2595 (1960). — 6. RUDMAN, D., L. A. GARCIA, S. J. BROWN, M. F. MALKIN und W. PERL, *J. Lipid Res.* 5, 28 (1964). — 7. LYNN, S., R. M. MACLEAD und R. H. BROWN, *J. biol. Chemistry* 235, 1904 (1960). — 8. HIRSCH, J., in: *Handbook of Physiology*, Section 5, 455 (1965), Williams & Wilkins Company, Baltimore, Maryland, USA. — 9. MOSINGER, B., in: *Handbook of Physiology*, Section 5, 601 (1965). — 10. CHRISTOPHE, J.: *Contribution à la biochimie des obésités expérimentales*, Editions Arscia S. A., Bruxelles, 1961. — 11. LOPEZ, E., J. E. WHITE und F. L. ENGEL, *J. biol. Chemistry* 234, 2254 (1959). — 12. ROBBELL, M., in: *Handbook of Physiology*, Section 5, 471 (1965). — 13. SUTHERLAND, E. W. und G. A. ROBISON, *Pharmacol. Rev.* 18, 145 (1966). — 14. WINEGRAD, A. J., *Vitamins and Horm.*, N. Y. 20, 141 (1962). — 15. RUDMAN, D., *J. Lipid Res.* 4, 119 (1963). — 16. VAUGHAN, M., in: *Handbook of Physiology*, Section 5, 239 (1965). — 17. JOEL, C. D., in: *Handbook of Physiology*, Section 5, 59 (1965). — 18. SCHWANDT, P. und TH. HARTMANN, unveröffentlichte Versuche.

Dr. P. Schwandt
8 München 15
Ziemssenstraße 1a

Vorkommen von UDP-Glucuronyltransferasen in der Magenschleimhaut des Menschen

VON W. HOFFMANN und H. BREUER

*Aus der Abteilung für Klinische Chemie und Biochemie der Chirurgischen Universitätsklinik und Poliklinik Bonn
(Direktor: Prof. Dr. A. Güttgemann)*

(Eingegangen am 24. August 1967)

Nach Inkubation von [4-¹⁴C]17β-Östradiol mit der Cytoplasma-Fraktion (105000 g-Überstand) der pylorusnahen Magenschleimhaut des Menschen in Gegenwart von Uridin-5'-diphospho-glucuronat konnte [4-¹⁴C]17β-Östradiol-17β-monoglucuronid nachgewiesen werden; [4-¹⁴C]Östriol ergab unter den gleichen Bedingungen [4-¹⁴C]Östriol-17β-monoglucuronid. In Versuchen mit der Mikrosomen-Fraktion der Magenschleimhaut entstanden ebenfalls [4-¹⁴C]17β-Östradiol-17β-monoglucuronid und [4-¹⁴C]Östriol-17β-monoglucuronid; außerdem wurde [4-¹⁴C]Östriol-16α-monoglucuronid gebildet. [4-¹⁴C]Östron wurde weder durch die Cytoplasma- noch durch die Mikrosomen-Fraktion glucuronidiert. Die Versuche zeigen, daß in der Magenschleimhaut des Menschen cytoplasmatische (lösliche) und mikrosomale UDP-Glucuronyltransferasen vorhanden sind. Die Glucuronyltransferasen besitzen eine ausgeprägte Gruppenspezifität und greifen nur alkoholische Hydroxylgruppen phenolischer Steroide an. Demnach bestehen zwischen den Glucuronyltransferasen der Magenschleimhaut und der Dünndarmschleimhaut des Menschen Unterschiede.

The enzymic formation of [4-¹⁴C]17β-oestradiol 17β-monoglucuronide was demonstrated after incubation of [4-¹⁴C]17β-oestradiol with the cytoplasmic fraction (105000 g supernatant) of human gastric mucosa in the presence of uridine diphosphate glucuronic acid. Under similar conditions, [4-¹⁴C]oestriol yielded [4-¹⁴C]oestriol 17β-monoglucuronide. Similarly, in experiments with the microsomal fraction, [4-¹⁴C]17β-oestradiol 17β-monoglucuronide and [4-¹⁴C]oestriol 17β-monoglucuronide were formed from [4-¹⁴C]17β-oestradiol and [4-¹⁴C]oestriol, respectively; in addition, [4-¹⁴C]oestriol 16α-monoglucuronide was detected. No glucuronidation of [4-¹⁴C]oestrone occurred in either the cytoplasmic or the microsomal fractions. These experiments demonstrate that the human gastric mucosa contains soluble as well as microsomal UDP-glucuronyltransferases. The glucuronyltransferases possess a pronounced substrate specificity and attack only alcoholic hydroxyl groups of phenolic steroids. The results reported here show that differences exist between the glucuronyltransferases of the gastric mucosa and the intestinal mucosa of man.

In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, daß die Bildung von C_{19} - und C_{18} -Steroidglucuroniden durch spezifische UDP-Glucuronat-Glucuronyltransferasen (EC 2.4.1.17) katalysiert wird (1—6). Während bis vor kurzem angenommen wurde, daß die Glucuronyltransferasen ausschließlich in den Mikrosomen-Fractionen der verschiedenen Organe lokalisiert sind (vgl. (7)), gelang inzwischen der Nachweis löslicher Glucuronyltransferasen im Groundplasma (150 000 g-Überstand) des Dünndarms vom Menschen (4—6). Im Hinblick auf die Bedeutung, die dem gastrointestinalen Abschnitt des Verdauungstraktes bei der Bildung von Glucuroniden zugesprochen wird (7, 8), schien es von Interesse, Untersuchungen über das Vorkommen, die Substratspezifität und die intracelluläre Verteilung von Glucuronyltransferasen im Magen des Menschen durchzuführen. Wie im folgenden gezeigt wird, kommen in der Magenschleimhaut des Menschen sowohl lösliche als auch mikrosomale Steroid-Glucuronyltransferasen vor, die — im Gegensatz zu den entsprechenden Enzymen der Dünndarmmucosa — eine Gruppenspezifität aufweisen.

Methodik

Steroide

[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östron [Östra-1.3.5(10)-trien-3-ol-17-on] (spez. Aktivität 29,5 mC/mMol)

[$4\text{-}^{14}\text{C}$]17 β -Östradiol [Östra-1.3.5(10)-trien-3.17 β -diol] (spez. Aktivität 31,8 mC/mMol)

[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östriol [Östra-1.3.5(10)-trien-3.16 α .17 β -triol] (spez. Aktivität 29,4 mC/mMol) und

[6.7- ^3H]Östriol (spez. Aktivität 1610 mC/mMol)

wurden vom Radiochemical Centre, Amersham, England, bezogen. Alle radioaktiven Steroide wurden vor den Versuchen papierchromatographisch auf Reinheit geprüft.

Östriol-17 β -monoglucuronid [Östra-1.3.5(10)-trien-3.16 α .17 β -triol-17 β -yl- β -D-glucopyranuronat]

Östriol-16 α -monoglucuronid [Östra-1.3.5(10)-trien-3.16 α .17 β -triol-16 α -yl- β -D-glucopyranuronat],

Östriol-3-monoglucuronid [Östra-1.3.5(10)-trien-3.16 α .17 β -triol-3-yl- β -D-glucopyranuronat] und

Östron-3-monoglucuronid [Östra-1.3.5(10)-trien-3-ol-17-on-3-yl- β -D-glucopyranuronat]

wurden von Dr. A. E. KELLIE, London, zur Verfügung gestellt. 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid [Östra-1.3.5(10)-trien-3.17 β -diol-17 β -yl- β -D-glucopyranuronat]

stammte von Prof. H. H. WOTIZ, Boston.

Reagentien und Lösungsmittel

Mit Ausnahme von FOLIN-CIOALTEUS-Reagenz waren alle Reagenzien von p. a. Reinheitsgrad (E. Merck, Darmstadt). Die organischen Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert. Uridin-5'-diphospho-glucuronat (80% di-Natriumsalz) wurde von C. F. Boehringer & Soehne, Mannheim, bezogen.

Gewebe

Alle Versuche wurden mit Magenschleimhaut vom Menschen durchgeführt, die bei der Resektion distaler Magenabschnitte wegen eines Ulcus gewonnen wurde. Das Gewebe stammte aus dem pylorusnahen Magen-Antrum; die histologische Untersuchung zeigte eine regelrechte Beschaffenheit der Magenschleimhaut. Die Zeit zwischen der Gewebesentnahme und dem Beginn der Aufarbeitung betrug 5—10 Min.

Zellfraktionierung

Die Magenschleimhaut wurde in Höhe der Submucosa abpräpariert, in einem Fleischwolf zerkleinert und in 0,25M Rohrzucker-Lösung

in einem Glashomogenisator bei 0° homogenisiert. Das 50 proz. Homogenat wurde zunächst 20 Min. bei 800 g in einer Spinco-Zentrifuge L-2 zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand 45 Min. bei 20 000 g zentrifugiert. Der 20 000 g-Überstand wurde 60 Min. bei 105 000 g zentrifugiert. Der 105 000 g-Überstand wurde vom Sediment getrennt und zweimal 30 Min. bei 105 000 g zentrifugiert. 2 ml des so gewonnenen 105 000 g-Überstandes enthielten die *Cytoplasma-Fraktion* aus 1 g Frischgewebe. Das Sediment der 1. Zentrifugation bei 105 000 g wurde in 0,25M Rohrzucker-Lösung resuspendiert und erneut 30 Min. bei 105 000 g zentrifugiert; dieser Schritt wurde einmal wiederholt. Die so gewonnene *Mikrosomen-Fraktion* wurde in 0,15M Soerensen-Phosphat-Puffer, pH 6,8, aufgenommen, so daß 2 ml die Mikrosomen-Fraktion aus 1 g Frischgewebe enthielten.

Inkubationsbedingungen

Alle Versuche wurden bei 37° für 120 Min. in einem Schüttelthermostaten unter Luft durchgeführt. Jeweils 1 μC [$4\text{-}^{14}\text{C}$]Steroid, gelöst in 0,01 ml Propylenglykol, wurde in Gegenwart von 4 mg Uridin-5'-diphospho-glucuronat mit 2 ml der Mikrosomen-Fraktion bzw. 2 ml der Cytoplasma-Fraktion und 4 ml eines 0,15M Soerensen-Phosphat-Puffers, pH 6,8, inkubiert. Das Gesamtvolumen der Inkubationsansätze betrug 6 ml.

Aufarbeitung der Versuchsansätze

Die Lösungen wurden dreimal mit jeweils 5 ml Äther/Chloroform (3 : 1 v/v) extrahiert, die Extrakte vereinigt und bei 35° eingedampft (*freie Steroide*). Zur Gewinnung der Glucuronide wurden die wäbr. Phasen jeweils mit 14 ml 96proz. Äthanol versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach Zentrifugation wurden die Lösungen von den Niederschlägen dekantiert und die Niederschläge zweimal mit je 2 ml 70proz. Äthanol gewaschen. Die wäbr.-äthanolischen Lösungen wurden vereinigt und zur weitgehenden Entfernung von Äthanol bei 50° auf etwas weniger als die Hälfte eingengt. Die wäbr. Phasen wurden zweimal mit je 10 ml n-Butanol extrahiert; sofern Emulsionen entstanden, wurde zentrifugiert. Die butanolischen Lösungen wurden mit einem Rotationsverdampfer bei 50° zur Trockne eingedampft (*Steroidglucuronide*) und die Extraktreste in Methanol/Wasser (1 : 1 v/v) aufgenommen.

Papierchromatographie

Die Papierchromatographie der freien Steroide erfolgte bei 25—27° auf formamidimprägniertem Papier (Schleicher & Schüll 2043 b MgI) in den Systemen Monochlorbenzol und Chloroform/Äthylacetat (5 : 1 v/v). Die Steroidglucuronide wurden bei 35° im System Essigsäure/Wasser/*tert.* Butanol/Dichloräthan (6 : 14 : 5 : 15 v/v) chromatographiert, nachdem die Papierchromatogramme über Nacht äquilibriert worden waren. Die Lokalisierung der freien Steroide und der Steroidglucuronide erfolgte durch Messung der Radioaktivität und Vergleich der Wanderungsgeschwindigkeiten mit denjenigen der authentischen Referenzsubstanzen. Sowohl die freien Östrogene als auch die phenolischen Steroidglucuronide wurden mit FOLIN-CIOALTEUS-Reagenz (9) sichtbar gemacht. Zur weiteren Identifizierung wurden die Steroidglucuronide von den Papierchromatogrammen eluiert.

Hydrolyse der Steroidglucuronide

Die phenolischen Steroidglucuronide wurden in 5 ml eines 0,15M Acetat-Puffers, pH 5,2, mit 0,5 ml eines Extraktes aus *Helix pomatia*¹⁾ (50 000 Fishman-Einheiten β -Glucuronidase) 24 Stdn. bei 37° inkubiert. Die freigesetzten Steroide wurden dreimal mit je 10 ml Äther/Chloroform (3 : 1 v/v) extrahiert, die Extrakte vereinigt und bei 35° eingedampft. Die Rückstände wurden in Methanol aufgenommen und der Papierchromatographie unterworfen.

Quantitative Bestimmungen

Die aus den Inkubationsansätzen extrahierten freien Steroide wurden in 5 ml einer Scintillations-Lösung (enthaltend 5 g/l 2,5-Diphenyloxazol [PPO] und 0,3 g/l 1,4-bis-2-(4-Methyl-5-phenyloxazolyl)-benzol [Dimethyl-POPOP]) mit Hilfe eines Tricarb-

¹⁾ Hersteller: L'Industrie biologique Française S. A., Gennevilliers, Seine.

Scintillations-Spektrometers Modell 3003 der Fa. Packard mit externem Standard quantitativ bestimmt; die Zählausbeute für ^{14}C beträgt 81%. Die quantitative Bestimmung der Steroidglucuronide erfolgte nach Papierchromatographie durch Auszählung der Radioaktivität auf 5 cm breiten und 50 cm langen Papierstreifen mit einem Radiopapierchromatographen Modell 7201 der Fa. Packard, ausgerüstet mit einem fensterlosen Helium-Butan-Durchflußzähler (4π -Zählgeometrie) und einem Integrator. Die Zählausbeute für ^{14}C beträgt 27%. Die Stickstoffbestimmungen erfolgten nach KJELDAHL.

Ergebnisse

Identifizierung der Steroidglucuronide

Nach Inkubation von $1\ \mu\text{C}$ [$4\text{-}^{14}\text{C}$]17 β -Östradiol mit der *Mikrosomen-Fraktion* der Magenmucosa in Gegenwart von Uridin-5'-diphospho-glucuronat wurde ein wasserlöslicher Metabolit nachgewiesen (A-1), der bei der Papierchromatographie im System Essigsäure/Wasser/*tert.* Butanol/Dichloräthan den gleichen R_F -Wert (0,71) wie 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid zeigte. Dieser Wert liegt etwas höher als der in einer früheren Arbeit (10) angegebene R_F -Wert für 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid (0,65). Der Unterschied zwischen den beiden R_F -Werten ist durch die verschiedenen Arbeitstemperaturen (20–25° bzw. 35°) bedingt. Nach Elution vom Papier wurde A-1 enzymatisch hydrolysiert und das freigesetzte Aglykon auf formamidimprägniertem Papier mit Monochlorbenzol chromatographiert; die radioaktive Verbindung hatte den gleichen R_F -Wert (0,39) wie authentisches 17 β -Östradiol. Demnach handelt es sich bei A-1 um 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid.

Nach Inkubation von $1\ \mu\text{C}$ [$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östriol mit der *Mikrosomen-Fraktion* entstanden unter den gleichen Bedingungen wie oben angegeben zwei wasserlösliche Metaboliten (B-1 und B-2), die sich papierchromatographisch im System Essigsäure/Wasser/*tert.* Butanol/Dichloräthan gut voneinander trennen ließen und deren R_F -Werte mit denjenigen von Östriol-16 α -monoglucuronid (0,51; B-1) und von Östriol-17 β -monoglucuronid (0,59; B-2) übereinstimmten. Nach getrennter Elution vom Papier wurden B-1 und B-2 der enzymatischen Hydrolyse unterworfen; die dabei freigesetzten radioaktiven Agly-

kone zeigten nach Chromatographie auf formamidimprägniertem Papier im System Chloroform/Äthylacetat (5:1 v/v) die gleichen Wanderungsgeschwindigkeiten (25,6 cm/15 Std.) wie authentisches Östriol. Daraus geht hervor, daß B-1 mit Östriol-16 α -monoglucuronid und B-2 mit Östriol-17 β -monoglucuronid identisch ist. Nach Inkubation von $1\ \mu\text{C}$ [$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östron mit der *Mikrosomen-Fraktion* konnten keine wasserlöslichen Metaboliten nachgewiesen werden; die gesamte eingesetzte Radioaktivität befand sich in der freien Steroid-Fraktion. Demnach hatte keine Glucuronidierung der phenolischen Hydroxylgruppe von Östron stattgefunden.

In den Inkubationsversuchen mit der *Cytoplasma-Fraktion* ergaben sich folgende Befunde: 17 β -Östradiol wurde zu 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid konjugiert, während aus Östriol nur Östriol-17 β -monoglucuronid, nicht aber Östriol-16 α -monoglucuronid entstand. Die Identifizierung von 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid und Östriol-17 β -monoglucuronid erfolgte wie oben beschrieben. Östron wurde — ähnlich wie in den Versuchen mit der *Mikrosomen-Fraktion* — durch die *Cytoplasma-Fraktion* nicht glucuronidiert.

Quantitative Untersuchungen

Die Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Bezogen auf die eingesetzte Eiweißmenge betrug die Bildungsrate für 17 β -Östradiol-17 β -monoglucuronid (ausgedrückt in nMol/g Eiweiß) 250 bzw. 258 in der *Mikrosomen-Fraktion* und 11,2 bzw. 8,8 in der *Cytoplasma-Fraktion*. Weniger deutlich ausgeprägt waren die Unterschiede in der Bildungsrate für Östriol-17 β -monoglucuronid; sie betrugen in der *Mikrosomen-Fraktion* 59,0 bzw. 24,5 und in der *Cytoplasma-Fraktion* 10,5 bzw. 28,8. Die Bildungsraten für Östriol-16 α -monoglucuronid in der *Mikrosomen-Fraktion* beliefen sich auf 260 (Versuch G-6) bzw. 71 (Versuch G-7).

Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die menschliche Magenschleimhaut Glucuronyltrans-

Tab. 1

Bildung von Östrogenmonoglucuroniden in verschiedenen Zellfraktionen der pylorusnahen Magenschleimhaut des Menschen. Es wurden jeweils $1\ \mu\text{C}$ [$4\text{-}^{14}\text{C}$]Steroid mit der Zellfraktion aus 1 g Frischgewicht inkubiert. Inkubationsbedingungen siehe Methodik. Die quantitative Bestimmung der Steroidglucuronide erfolgte durch Messung der Radioaktivität nach Papierchromatographie

Versuch Nr.	Zellfraktion	Eiweißgehalt der inkubierten Zellfraktionen (mg)	Inkubiert Steroid	Menge (nMol)	Nachgewiesen Steroidglucuronid	Menge (nMol)	Gesamt-wiederfindung ¹⁾ %
G-6	105 000 g-Überstand	42,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östron	33,9	kein	0	91
		42,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]17 β -Östradiol	31,4	17 β -Monoglucuronid	0,47	91
		42,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östriol	34,0	17 β -Monoglucuronid	0,44	93
	Mikrosomen-Fraktion	12,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östron	33,9	kein	0	98
		12,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]17 β -Östradiol	31,4	17 β -Monoglucuronid	3,01	96
		12,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östriol	34,0	16 α -Monoglucuronid 17 β -Monoglucuronid	3,10 0,71	93 93
G-7	105 000 g-Überstand	32,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östron	33,9	kein	0	94
		32,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]17 β -Östradiol	31,4	17 β -Monoglucuronid	0,28	93
		32,0	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östriol	34,0	17 β -Monoglucuronid	0,92	95
	Mikrosomen-Fraktion	8,2	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östron	33,9	kein	0	92
		8,2	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]17 β -Östradiol	31,4	17 β -Monoglucuronid	2,12	97
		8,2	[$4\text{-}^{14}\text{C}$]Östriol	34,0	16 α -Monoglucuronid 17 β -Monoglucuronid	0,58 0,20	89 89

¹⁾ Einschließlich der freien Steroide.

ferasen enthält, welche die Bildung phenolischer Steroidglucuronide katalysieren. Der Nachweis von Glucuronyltransferasen gelang sowohl in der Mikrosomen-Fraktion als auch in der Cytoplasma-Fraktion (105 000 *g*-Überstand). Ähnliche Befunde waren bereits früher mit Zellfraktionen des Dünndarms vom Menschen erhoben worden (6). Während das lösliche Enzym der Magenschleimhaut ausschließlich die 17 β -ständigen, alkoholischen Hydroxylgruppen der phenolischen Steroide (17 β -Östradiol und Östriol) glucuronidierte, reagierte das mikrosomale Enzym nicht nur mit der 17 β -ständigen, sondern auch mit der 16 α -ständigen Hydroxylgruppe von Östriol. Weder mit 17 β -Östradiol noch mit Östriol als Substrat erfolgte eine Glucuronidierung der phenolischen Hydroxylgruppe am C-Atom 3; auch Östron ergab nach Inkubation mit den Enzympräparationen kein Östron-3-monoglucuronid. Aus diesen Ergebnissen kann auf eine Gruppenspezifität der mikrosomalen und cytoplasmatischen Glucuronyltransferasen der menschlichen Magenschleimhaut geschlossen werden. In diesem Punkte unterscheiden sich die Glucuronyltransferasen des Magens von denjenigen des Dünndarms (6): Die intestinalen Enzyme glucuronidieren sowohl die phenolische Hydroxylgruppe als auch die alkoholischen Hydroxylgruppen von Östrogenen (5, 6). Ob das Fehlen einer Glucuronidierung der phenolischen Hydroxylgruppe auf die Magenschleimhaut beschränkt ist, bedarf weiterer Untersuchungen; obgleich SLAUNWHITE, LICHTMAN und SANDBERG (11) in Leberhomogenaten des Menschen ausschließlich eine 16 α -Glucuronidierung von Östriol fanden, konnten wir kürzlich sowohl in der Mikrosomen- als auch in der Cytoplasma-Fraktion der

Leber des Menschen eine Glucuronidierung der phenolischen Hydroxylgruppe von Östron nachweisen (12). Bei Verwendung von 17 β -Östradiol als Substrat ist die Bildungsrate des 17 β -Monoglucuronids — bezogen auf die eingesetzte Eiweißmenge — in der Mikrosomen-Fraktion etwa 25mal größer als in der Cytoplasma-Fraktion. Wesentlich geringere Unterschiede in der Bildung des 17 β -Monoglucuronids durch das mikrosomale und cytoplasmatische Enzym wurden bei Verwendung von Östriol beobachtet; darüber hinaus glucuronidiert das mikrosomale Enzym die 16 α -Hydroxygruppe in deutlich größerem Umfang als die 17 β -Hydroxygruppe.

Über die physiologische Bedeutung der Glucuronidierung von Östrogen in der Magenschleimhaut läßt sich noch nichts Endgültiges aussagen. Man kann annehmen, daß die in der Magenschleimhaut gebildeten Östrogen-glucuronide über die abführenden Magenvenen und die Pfortader direkt in die Leber gelangen. Damit werden die im Magen resorbierten und glucuronidierten Östrogene ebenfalls dem enterohepatischen Kreislauf der Östrogen-glucuronide, über den früher bereits berichtet worden ist (13), zugeführt. Die Tatsache, daß der Magen bei der Resorption von Steroiden eine Rolle spielt, dürfte im Zusammenhang mit der oralen Verabreichung von Östrogenen von Interesse sein.

Die vorliegende Untersuchung wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Der eine von uns (W. H.) dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ein Stipendium. Herrn Dr. K. DAHM sind wir für wertvolle Hinweise und Fräulein CHRISTA SCHRÖDER für ihre Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

Literatur

1. SMITH, E. R. und H. BREUER, *Biochem. J.* 88, 168 (1963). —
2. BREUER, H. und D. WESSENDORF, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 345, 1 (1966). —
3. DAHM, K., H. BREUER und M. LINDLAU, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 345, 139 (1966). —
4. DAHM, K. und H. BREUER, *Biochim. biophysica Acta* (Amsterdam) 113, 404 (1966). —
5. DAHM, K. und H. BREUER, *Biochim. biophysica Acta* (Amsterdam) 128, 306 (1966). —
6. DAHM, K. und H. BREUER, *diese Z.* 4, 153 (1966). —
7. *Glucuronic Acid, free and combined*. Hrsg. von DUTTON, G. J., Academic Press, New York and London, 1966. —
8. STEVENSON, I. H. und G. J. DUTTON, *Biochem. J.* 82, 330 (1962). —
9. FOLIN, O. und V. CIOCALTEU, *J. biol. Chemistry* 73, 627 (1927). —
10. DAHM, K. und H. BREUER, *Acta endocr. (K'hn.)* 52, 43 (1966). —
11. SLAUNWHITE, W. R. JR., M. A. LICHTMAN und A. A. SANDBERG, *J. Clin. Endocr. (Springfield)* 24, 638 (1964). —
12. RAO, G. S. und H. BREUER, unveröffentlichte Versuche. —
13. BREUER, H. und K. DAHM, 12. Symp. d. Dtsch. Ges. f. Endokr., Springer, Heidelberg 1967, S. 280.

Prof. Dr. rer. nat. H. Breuer
Abt. f. Klin. Chem.
und Biochemie der Chirurg.
Univ.-Klinik und Poliklinik
53 Bonn, Venusberg